

優先権主張
国名: フランス国
出願日: 昭和49年5月3日
出願番号: 第7215696号
出願者: 三宅 卓
出願人: ロドルフ・マルグラフ



〔先掲既刊審査用〕

特許願

昭和48年5月1日
特許庁長官 三宅 卓 夫

1. 発明の名前 カリウ
改良されたL-リジンポリマーの製造方法

2. 発明者 在所 フランス国リ・オランダ・エフソンヌ・リュドワペルシ

氏名 ロドルフ・マルグラフ (ほか 1名)

3. 特許申請人 在所 フランス国リ・オランダ・エフソンヌ・リュドワペルシ

名前 ローン・ブラン・エス・ア
(以下)

代業者 進完

国名 フランス国

4. 代理人 人名 T107

住所 東京都渋谷区渋谷1丁目9番15号

日本自動車会社

氏名 0000000000 小田島 幸吉

電話 585-2256

明細書

⑩ 日本国特許庁

公開特許公報

⑪特開昭 49-48785

⑫公開日 昭49.(1974)5.11

⑬特願昭 48-47687

⑭出願日 昭48.(1973)5.1

審査請求 未請求 (全12頁)

序内整理番号

⑮日本分類

7133 45

260E11

7215 45

260E02

6793 44

30 C4

の繰り返し単位と式:

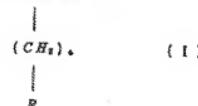
1. [発明の名称]

改良されたL-リジンポリマーの製造方法

2. [特許請求の範囲]

50より多い繰り返し単位をもつL-リジンポリマーを-NH₂基と反応することのできる試薬と既知の方法で反応させて、-NH₂基を-R基に変えることを特徴とする、

本質的に式:



(II)



の繰り返し単位とから成る改良されたL-リジンポリマー

〔但し、式(II)の繰り返し単位の全数がnである式(II)の繰り返し単位の全数がmであるて、n+mが50より大きい、但し、nは0であつてもよい、また各々基は、同一であつても複数なついててもよく、次の基のうちの1つを表わす:〕



〔但し、 α は1～4である脂肪酸の基〕；
 $-NH-(CH_2)_2-COOH$ ； $-NH-CO-$
 CH_2-CH_2-OH ； $-NH-CO-(CH_2)_3-$
 SO_2H ； $-NH-CO-NH_2$ ； $-NH-C-NH_2$ ；
 $-OH$ および $-N(CH_2)_2$]

の製造方法。

3. [発明の詳細を説明]

本発明はポリ(改良された α -リジン)の製造方法に関するもの。

塩基性 α -アミノ酸ポリマーの非常に多様な生物学的性質は、特に当分野における $E. coli$ による数々の研究の結果として、数年前から知られてきている。天然の α -アミノ酸から誘導されるホモポリマーのポリ(塩基性 α -アミノ酸)の中で、 ϵ -位の NH_2 基が6個のメチレン基によ

りポリペプチド鎖からは離れているポリ(ϵ -リジン)は、既により近い NH_2 基を有するポリマーに比較して、種々の生理学的効果が最も顕著である立体配置をもつ。これらの効果は等に次の二とに関する：

a) 非常に広い α H基團にわたつて、特に

1.7 濃度の酸性の α Hに対する、ペプシンの酵素活性の阻害、

b) 肉のホスホリーゼとの相互作用、

c) ポリメタレオチドホスホリーゼの活性化、

d) リボタンパクリバーゼの阻害、

e) 高濃度を用いた場合脱化型に対して阻害効果をもたらす逆に低濃度を用いた場合は活性化効果をもつテトクローム脱化酵素の阻害、

f) ATPアーゼに対する ϵ に類似の効果、
 g) 血凝アルブミンとの相互作用、
 h) ヒストン模似効果をもつ天然および人工の複数の蛋白質形成、リボ核酸合成の阻害および生きてている細胞の染色体細胞の抑制、

i) インフルエンザおよび天然痘ビールスの、およびニューカツル病のビールスの増殖の抑制ならびに脊髄灰白質炎のビールスに対するマウスおよび猿の生体内での保護、

j) 大腸菌アーヴィングT2、T4およびT5のようをバクテリオファージの不活性化、

k) エールリントヒ酸素およびアゾカルシノ α TA3の抑制をもつ抗腫瘍効果、

l) 多数の微生物の増殖および細胞の抑制およびその効果としての帶電作用および殺菌効果、

m) 複体結合、

n) 抗ヘパリン効果と組合わざつたトロンビンの生成を阻害することによる血液凝集活性、および

o) 血栓への凝集活性

逆の効果が共存するとき、性質の強さおよび、

p) 時には、方向はポリ(ϵ -リジン)分子の外側に現われている NH_2 基の存在および配置と密接に関係しており、この後者の配置はある実験条件下で現われる構造したペプチド結合の水素原子と酸素原子との間の水素結合によるらせん形に図示している。

多くの上述の性質は、ポリ(リジン)の ϵ -アミノ基の電荷と逆の電荷をもつカルボキシ基を与える適当な量のポリ(アスパラギン酸)またはポ

リ(グルタミン酸)をポリ(ル-リジン)が伴うとき、選択的に、改良されたり、減少したり、除去されたりあるいは逆になつたりすることがある。しかしながら、電荷の非化学的中和からの結果としての生理学的効果は総合的イオン強度に非常に敏感である。その理由は塩溶液が2つのポリマーの鎖の間にそれ自身は入り込みまたポリペプチド鎖のポリ塩溶液特性から由来する効果を抑制するからである。

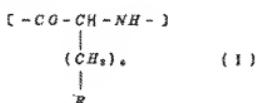
同様に、ロ-カルボキシ基を有するロ-アミノ酸(グルタミン酸またはアスパラギン酸)とル-リジンの共重合によりカルボキシ基が与えられるとき、いくつかの性質が変化するが、この場合、ポリペプチド鎖のらせん形の性質に関連している性質は鎖全体にばらまかれた種々の単位の存在に

より影響される; 實験において、分子の外側でのイオン性質の出現が分子のらせん形に密接に関連しているということを考慮すると、このらせんの一様性は分子の生理学的性質に対して大きな影響をもつということがわかる。

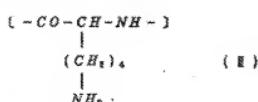
本発明者等は、本発明にしたがえば、塩酸のイオン強度に敏感である逆符号の電荷を有するかモポリマーの混合物を用いることによってでなく、また分子のらせん構造を変えるロ-位に酸基を有するロ-アミノ酸の共重合によってでなく、相反する基を有するような表面化学反応を本質的に用いることにより所望の混合でポリ(ル-リジン)の側鎖のNH₂基を修正することにより、上述の生理学的効果を改良することが有利であるということを見い出した。可能を反応の中で、最も有利

なものば、スルホン酸またはカルボン酸基による負電荷を導入することを可能にする反応、もしくは塩酸の塩酸性、あるいは分子の両親属性を変えることを可能にする親水性基をそのまま保持するか除去するかの反応である。

本発明に従つて、式:

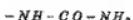


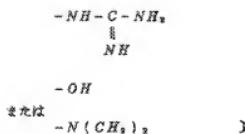
の繰り返し単位と式



の繰り返し単位とから本質的になるル-リジンポリマー

〔但し、式(I)の繰り返し単位の全数はnであり、式(II)の繰り返し単位の全数はmであつて、n+mが50より大きく、好ましくは2,000より大きいものであり、nは0であつてもよく、また式中、各R基は、同一であつても相異であつてもよく、次のものを換わす:





が提供される。

種々の基-Rは、-NH₂基をこれらの基-Rのうちの1つに変える既知の任意の方法を適用することにより、ポリ(L-リジン)の分子上に、生成させることができる。

このように、例えば、アミノ基をビリジン-無水硫酸錠体のような適当なスルホン化剤との反応によりスルホン化して-NHSO₃H基を与えることができ、またそれzelfスルトンまたは無水-N-スルホプロピオニン酸との反応によりアミノ基を-NH(CH₃)₂SO₃Hまたは-NHCO

特開昭49-48785(4)
(CH₃)₂SO₃H基に変えることができる。

酸性条件下ではβ-プロピオラクトンとの反応により-NH(CH₃)₂COOH基を生じさせることができ、一方、塩基性条件下では-NHCOCH₂CH₂OH基を生じさせることができる。

無機イソシアニ酸塩との反応により-NH-CO-NH₂を生成させることができ、一方、-NH-C-NH₂基は硫酸5-メチル-イソチオウロ

NHニウムとの反応により生成させることができる。-NH₂基を、例えばポリマーのホルムアルデヒドおよびギ酸との反応により、2つのメチル基で置換させることができる。例えば亜硝酸ナトリウムと臭化水素酸とを用いて亜硝酸アミノ基をヒドロキシ基に変えることができる。さらにこれら

の方法の詳細は以下の実施例で述べる；類似の方法を、もちろん使用できる。

種々の基Rの性質と相対的制合は、所要の生理的効果を与えるような方法で調節することができる。逐次的にあるいは同時に、各々の基を独立に制御された程度に導入することができる。さらに、ポリ(L-リジン)は、それが50以上繰り返し単位を含むならば、任意の分子量であることができる。

本発明に従つて得られるポリマーは、生物のイオン強度と酸性度とに対応するそれをもつ水溶性(2HがpH 7.3.5でイオン強度がNaClO₄に関してはpH 0.150M)中に可溶であり、ヘパリノイドまたはヒルディノイドのような既知の構造の生成物の非凝集活性と他の新しい種の非凝集活性

をもつ。さらに、適当な2官能性化合物との反応により、あるいはα-位にある基の相互の反応を助けることにより、α-位にある基の分子内交換結合によつて、ポリマーを頭状、フィルムおよびラッカーの形で不溶性にすることができます。可溶な生成物をまた、同じ基によつて反応性の場所を有する表面上に、上述の改変された生理学的性質を表面に与えるために、固定させることができます。その生理学的性質のうちで、最も価値があるのは上述の成分で製造された表面とタンパク質および血液凝固系の酵素の適合性である。

特に価値ある場合はR=-NH-SO₃Hとのときで、それが制御されて導入されると、全体の非凝集効果を維持しながら血栓に対する凝集効果を取除くことを可能にする。

本発明に従つて改良されたムーリジンの混合物は、従つて、生理学的液体と接触することを意図されている製品あるいは被覆を製造するのに用いることができる。それらはまた、ヘパリンを主剤とする複合物に類似して抗凝固剤として治療に用いることのできる適当な製剤上の相体または希釈剤を含む薬剤組成物を製造するのに用いることができる。

次の実施例は本発明をさらに説明する。

実施例 1

炭酸カリウム (2.7 g) とプロパンスルトン (1.22 g) を水 (100 ml) 中のポリ (ムーリジン塩化水素塩) (約 4,000 ムーリジン単位に等しい混合度をもつ) (2.3 g) の溶液に加える。

単位と 1.7 % の、R が式：



である式 (I) の単位とから成るポリ (スルホプロピル化ムーリジン) (0.8 g) が得られる。

実施例 2

実施例 2 の手順に従つて、溶液を 5 時間煮した後、 $K_2 CO_3$ (7.0 g) とプロパンスルトン (1.22 g) をそれに加え、全体を 50 度に 5 時間放置する；この後の操作を 5 回繰り返す。

透析、沈殿および乾燥の後、R が基



である 100 % の式 (I) の単位から成る完全にスルホプロピル化ポリ (ムーリジン) (1.0 g) が得られる。

50 度に 3 時間加熱後、プロパンスルトン (さうらに 1 g) を加え、50 度で加熱を 8 時間続ける。次いで溶液を再生セルロース膜を通して蒸留水 (10 L) に対して 48 時間透析し、次いでエタノールを加えることによりポリマーを沈殿させ、乾燥する。61 % の式 (I) の単位と 39 % の、R が式：



の基である式 (I) の単位とから成るポリ (スルホプロピル化ムーリジン) (1.0 g) がこうして得られる。

実施例 2

3.75 g の炭酸カリウムを用いて実施例 1 の手順を繰り返す；混合物を 50 度で 5 時間煮する。

透析、沈殿および乾燥の後、83 % の式 (I) の

実施例 4

塩化メチレン (50 ml) と濃縮乾燥したポリ (ムーリジン) 塩基 (4,000 の混合度をもつ) (0.385 g) とから成る搅拌されている懸濁液に β -プロピオラクトン (85 ml) を加え、全体を 20 度で 20 時間搅拌する。次いで固体物質を沈過して取り、ジエチルエーテルで洗い乾燥する。乾いた生成物 (0.280 g) を得、それを密閉で 0.1 N 塩酸水溶液 (50 ml) 中で 3 日間搅拌する。こうして得た溶液を沈過し、次いで再生セルロース膜を通して蒸留水 (10 L) に対して透析する。保持された分量を濃縮乾燥すると [ムーリジン] $- [N - z - (2 - \text{カルボキシエチル}) - \text{ムーリジン}]$ コポリマー (0.18 g) を与え、それは水に可溶であり、また 7.25 % の式 (I) HCl の

単位と 27.5% の、R が基



である式(1)の単位とから成る。

実施例 5

ポリ(L-リジン 奥化水素塩) (4,000 の重合度をもつ) (0.45 g) を蒸留水 (250 mL) に

溶解し、溶液を浴槽中で 0°C に冷却し、1N NaOH の水溶液 (215 mL) を搅拌しながら滴下して入れる。β-プロピオラクトン (0.27 mL) を加え、室温で混合物を 80 時間搅拌する。溶液を濾過し、次いで再生セルロース膜を通して蒸留水 (100 mL) に対して 48 時間透析する；保持された分量を次いでメタノールを加えて沈殿させ、ジエチルエーテルで洗い乾燥する。こうして、[N-ε-(3-ヒドロキシプロピオニル)-L-リジン]-

[N-ε-(2-カルボキセチル)-L-リジン]コポリマー (0.30 g) を得、それは水に可溶であり、またもつばら式(1)の単位から成り、R が 7.5% の単位中で基-NH-CO-CH₂-CH₂OH でまた 25% の単位中で基-NH-(CH₂)₂-COOH である。

実施例 6

ポリ(L-リジン 奥化水素塩) (4,000 の重合度をもつ) (1.05 g) を蒸留水 (400 mL) に溶解し、水から新しく再結晶したシアノ化カリウム (0.45 g) を加え、全量を 20°C で 20 時間搅拌する。溶液を再生セルロース膜を通して蒸留水 (100 mL) に対して 48 時間透析し、保持された分量をメタノール中で沈殿させ、乾燥する。

こうしてポリマー-[L-リジン]-[ε-ウン

イド-L-ノルロイシン] (0.7 g) が得られ、それは水に可溶であり、25% の式(1)-HB₂ の単位と 7.5% の、R が基-NH-CO-NH₂ である式(1)の単位とから成る。

同じ条件下で、シアノ化カリウムが 20 時間作用した後、シアノ化カリウム (0.45 g) の添加を繰り返し、混合物を再び 20°C で 20 時間放置する。透析、沈殿および乾燥の後、得られるポリ[ε-ケイドイド-L-ノルロイシン]は R が-NH-CO-NH₂ である 100% の式(1)の単位を含む。

実施例 7

水 (200 mL) 中の NaNO₂ (1.0 g) の溶液を、0°C に冷却されている 0.1N の奥化水素酸の水溶液 (50 mL) 中のポリ(L-リジン 奥化水素

塩) (4,000 の重合度をもつ) (1.045 g) の溶液に加える。

混合物を室温で 20 時間放置して反応させる。溶液を再生セルロース膜を通して蒸留水 (200 mL) に対して 48 時間透析し、次いで保持された分量をエタノール中で沈殿させ、乾燥する。

こうして 12% の式(1)-HB₂ の単位と R-ε-OH 基を含む 88% の式(1)の単位とから成る[L-リジン]-[ε-ヒドロキシ-L-ノルロイシン]コポリマー (0.8 g) が得られる。

実施例 8

ポリ(L-リジン 奥化水素塩) (4,000 の重合度をもつ) (1.254 g) を蒸留水 (1000 mL) 中に溶解する。

四ホウ酸ナトリウム ($Na_4B_4O_7 \cdot 10H_2O$)

(6 g) を得られた澄んだ溶液に加え、次いで金体を 0°C に冷却し、 $NaOH$ の 1 N 水溶液を加えることにより ΔH を 9.8 に保持する。

ビリジン無水硫酸錠体 (2.0 g) (*Inorganic Synthesis*, 8, p. 173 に従つて製造した)

を次いで加え、温度を 0°C に、また 0.1 N 的

$NaOH$ 水溶液を加えることにより ΔH を 9.8 に保ちながら混合物を激しく搅拌する。すべての錠体が溶解したとき、また ΔH がもはや変化しないとき、反応は完了する。

蒸溜水を拂過し、再生セルロース膜を通して蒸溜水 ($2 \times 10 \text{ mL}$) に対して透析し、次いで $N/10$ の臭化水素酸水溶液 (10 mL) に対して、また再び蒸溜水 ($2 \times 10 \text{ mL}$) に対して透析する。次いで 10^4 ダルトンよりも大きい粒子を保持する

錠体をエチルエーテルで洗い、 $NaOH$ の 1 N 水溶液 (100 mL) 中に取る。

紫外溶液の ΔH が 7 になるまでアミコン XM 100 装 (10⁴ ダルトンよりも大きい粒子を保持する) を通して紫外拂過した後、生成物を凍結乾燥する。

もつづら R が $-N(C_6H_5)_2$ である式 (1) の単位から成るポリ [ϵ -ジメチルアミノ-ルノルロイシン] (1 g) がこうして得られる。

実験例 10

実験例 8 の手順に従つて、ビリジン-無水硫酸錠体 (1.2 g) を加え、温度を 0°C に、また 1 N $NaOH$ 溶液を加えることにより ΔH を 9.8 に保持しながら、混合物を激しく搅拌する。

2 時間後、錠体 (1.2 g) の総加を繰り返し、

アミコン (AMICON) XM 100 装を通して紫外拂過により、生成物を 320 毫から 30 毫に濃縮し、凍結乾燥する。こうして 20% の式 (1) の単位と R が $-NH_2SO_3H$ である 8.0% の式 (1) の単位と R が $[\epsilon-\text{スルフアミノ-ルノルロイシン}]$ コポリマー (1.0 g) を得る。

実験例 9

凍結乾燥したポリ (ル-リジン) 錠基 (4.000 の重合度をもつ) (1.3 g) を室温で搅拌しながらギ酸 (100 mL) 中に溶解する。

次いでホルムアルデヒドの 3.0% 水溶液 (2 mL) を加え、全体を 35°C で 1 時間煮する。3.0% ホルムアルデヒド溶液 (さらに 2 mL) を加え、加熱を 35°C で 1 時間続ける。真空でギ酸を追い出し、

温度と ΔH とを上述のように保持する。さらに 2 時間後、ビリジン-無水硫酸錠体 (1.2 g) を 3 回目で加えた後 (全体で 3.6 g を加えた)、 ΔH を 9.8 に 2 時間保持する。次いで混合物を 0°C で 1.5 時間放置し、実験例 8 におけるように精製する。

R が $-NH_2SO_3H$ である 100% の式 (1) の単位から成るポリ (ϵ -スルフアミノ-ルノルロイシン) (1.160 g) を得る。

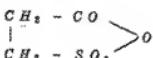
リジン基がないことは *Sanger, Biochem. J.*, 39, 507 (1945) によるジエトロフェニル化により証明される。

実験例 11

ポリ (ル-リジン臭化水素塩) (4.000 の重合度をもつ) (0.209 g) を蒸溜水 (1.5 mL)

に溶解する。固ホウ酸ナトリウム ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$) (0.5 g) を得られた澄んだ溶液に加え、次いで全体を 0°C に冷却し、1N 水酸化ナトリウム溶液を加えることにより pH を 9.8 に調節する。

Kharasch, M. S. ら, J. Am. Chem. Soc., 62, 2393 (1940) に従つて製造された式:



の無水 β -スルホプロピオニン酸を次いで 6 つの等量ずつ加え、その間温度を 0°C に、また 1N 水酸化ナトリウム溶液 (20 mL) を加えることにより pH を 9.8 に保持する。

反応は βH がもはや変化しないとき完了する。

澄んだ溶液を次いで 10° グルトンより大きい分子量の増量を保持する機外汎過器を通して吸外汎過する。保持された分量を、機外汎液が 10° 0 mL により大きくなるまで蒸留水で希釈する。

保持された分量を次いで煮沸乾燥する。こうして、75% の式 (I) の単位と 25% の、R が $-NHCO(C_2H_5)_2SO_2H$ を表わす式 (I) の単位とを含む [β -リジン] - [ϵ - (3-スルホプロピオニル) - β -リジン] コポリマー (0.168 g) が得られる。

実験例 1.2

ボリ (β -リジン異化水素塩) (4.000 の混合度をもつ) (0.209 g) を水 (15 mL) に溶解させる。得られる澄んだ溶液に、0°C に冷却し

ながら、トリエチルアミン (0.3 mL) を滴下して、4% の、R が $-NHCO(C_2H_5)_2SO_2H$ である
還元液を滴入 加える。

2-ヒドロジノカルボニル-エタン-スルホン酸ナトリウム 1 水塩 (4.16 g) を 0°C で 1N 塩酸 (50 mL) 中に溶解させる。亜硝酸ナトリウム (3.45 g) を少量ずつ加え、混合物を 0°C で 30 分間放置して反応させる。次いで過剰の亜硝酸を炭素気流下で除去する。こうして得られる澄んだ溶液を上で製造したゲルに加える。混合物を搅拌しながら 0°C に 1 時間保ち、得られる澄んだ溶液を 20°C で 1.5 時間放置し、次いで 1.0 N 水酸化ナトリウム溶液を加えることにより pH 1.3 に調節する。次いで生成物を実験例 1.1 に示したように機外汎過で精製する。

煮沸乾燥の後、25% の式 (I) の単位と 75%

式 (I) の単位とから成る [β -リジン] - [ϵ - (3-スルホプロピオニル) - β -リジン] コポリマー (0.254 g) を得る。

2-ヒドロジノカルボニル-エタン-スルホン酸ナトリウム 1 水塩を次のように得る:

0.2 M ナトリウムエチラート (500 mL) を 0°C で無水テトラヒドロフラン中の無水 β -スルホプロピオニン酸 (1.36 g) に加える。沈殿を得る。沈澱をかき、2-エトキシカルボニルスルホン酸ナトリウム (2.6 g) を得る。

ヒドロジン水和物 (6 mL) と蒸留水 (9 mL) とをその生成物 (1.1.4 g) に加える。混合物を搅拌下で 2 時間加熱し、次いで混合物を還流したがら、水 (2.6 mL) とエタノール (7.8 mL) とを加

える。冷却後、生成物が沈殿する。静置および乾燥後、2-ヒドロジノカルボニルエタンスルホン酸ナトリウム1水塩(9.3g)を得る。

実 試 例 13

〔L-リジン〕-〔L-ホモアルギニン〕コポリマー。

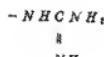
ポリ(L-リジン変化水塩塩)(4,000の重合度をもつ)(1.045g)、瘦いて四ホウ酸ナトリウム($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$)(1.9g)を還元、20°Cで蒸留水(50cc)に溶解させる。

$NaOH$ の1N水溶液(1.25cc)を次いで搅拌しながら滴下して注ぐ。この添加の間、溶液のpHは9.7から10.9に変化する。硫酸S-メチルイソチオクロニウム(1.0g)をこの均一な溶液に加え、全体を搅拌しながら70°Cで30分間

蒸する。

溶液を20°Cに冷却し、1.0gダルトンより大きい分子量の溶液を保持する膜外汎過膜を通して膜外汎過する。その後、保持される分量を、膜外溶液がもはや共聚イオンを含まなくなるまで $10^{-3}N$ 水酸化ナトリウム溶液で希釈し、次いで 10^3 ccより大きい抵抗をもつ膜外溶液が得られるまで蒸留水で希釈する。

保持された分量を深細乾燥すると、Rが



である50%の式(I)の単位と50%の式(II)の単位とから成る〔L-リジン〕-〔L-ホモアルギニン〕コポリマー(0.825g)が得られる。

実 試 例 14

実施例10に記載のように製造したポリ(ε-スルフアミノ-L-ノルロイシン)の濃度を漸次増大させて存在させ、クエン酸塩を含む犬の血漿に対して次の測定を行なう。各々のデータが次のように決定された：

Biggs R.M. および Macfarlane R.G., 血液凝固およびその障害 — Black Scientific Publications — Oxford — 1962, に載つた、トロムビン時間。

Quick A.J., J. Biol. Chem., 169, 73(1935)に載つた、クイック(Quick)時間、および

Lauritsen M.J. と Westland C.

[Res. Hemat., 12, 2(1957)]に載

つた、セファリン-カオリン時間。

比較のために、同じ方法を用いてヘパリンの効果をこの同じ血漿に対して調べる。次の表は得られた結果を与える。

調べた反応装置	測定した凝固時間(秒)		
	時間	ターグル時間	セフアリントメトリー時間
改良していないハクエン酸塩を含む血漿			
〃	ナトリウム・カルボキシルトリウム (カルボキシルトリウム)	1.5 mM/L	9.7
〃	〃	3.0	10.6
〃	〃	6.5	12.6
〃	〃	14.0	15.7
〃	〃	31.0	21.2
〃	ナトリウム・カルボキシルトリウム (カルボキシルトリウム)	0.15 mM/L	27.8
〃	〃	0.6	12.3
〃	〃	8	1.0

用いた方法に拘らず、ボリ (ε-カルボキシルトリウム) は凝固時間の著しい延長を引き起こすことが見い出される。及ぼされる抗凝固作用は、少なくとも部分的に、ヘパリンの作用 (トロンビンに対する作用) と同じ型のものである。

実施例 15

イエウサギの血液 (3.6 mL) をクエン酸ナトリウムの 3.8% 水溶液 (4 mL) 上に集め、全血を 15°C で 900 G で 20 分間遠心分離する。こうして得られる血漿は、血小板に豊富であるが、15°C で 1,400 G で 10 分間遠心分離される。次いで血小板の沈殿をブドウ糖を含むクエン酸緩衝液 (クエン酸ナトリウム: 7.60 mM、無水ブドウ糖: 1.20 mM および生理学的緩衝液: 0.88% P.100 mL)

で 3 回洗い、最後に、グルコースとアルブミンを含むテロイド (Tyrodes) 液 (4 mL) 中に再び懸濁させる [Kinrion = Ratkrene R.L. ら, *J. Lab. Clin. Med.*, 75, 780 (1970) を参照]。

こうして得られる血小板の懸濁 (0.6 mL) を分光測光用のセルに入れ、テロイド液 (2.4 mL) を加え、練りて、3 分間の搅拌の後に、生理学的緩衝液 (0.3 mL) もしくは生理学的緩衝液中の G.D. Fawcett ら, *J. Am. Chem. Soc.*, 83, 709 (1961) に従つて製造されたボリ (ε-カルボキシルトリウム) のあるいはボリ (ε-カルボキシルトリウム) (実施例 10) の中性緩衝液を加える。最後の試薬の添加の前 3 分間と、その後の 10 分間の間、600 nm での光学密度を時間

の倍数として記録する。

次の表は得られた結果を要約する。

測定の時間	600%での光学密度
最後の試薬の添加の前	0.500
0.3%の生理学的濃度の添加の後10分	0.420
0.3%の濃度1.1%のボリ(エースルファミノ-ル-ノロイシン)の添加の後10分	0.025
0.3%の濃度2.2%のボリ(エースルファミノ-ル-ノロイシン)の添加の後10分	0.415

1.1%の濃度で、ボリ(ル-リジン)はこのように血小板の非常に大きな凝集を引き起こす。

逆に、ボリ(エースルファミノ-ル-ノロイシン)はこれらの血小板に対し、2.2%の濃度でさえも、全然作用をもたない。

実施例 1.6

実施例1.4の条件に類似の条件下で、クイツク時間で、実施例6に記載したように製造した[ル-リジン] - [N - (2-カルボキシエチル) - ル-リジン]コポリマーの量を漸次増大させて存在させ、クエン酸塩を含む犬の血漿について決定する。

次の値を得る：



特許出願人 ローン・ブーラン・エス・ア

代理人弁理士 小田島 平吉

改良してO₂を含むクエン酸塩を含む血漿

+実施例4の生成物		2.75% / L	8.2
#	#	5.5	10.4
#	#	8.25	11.4
#	#	1.10	13.6
#	#	1.375	17.5
#	#	1.65	23.6
#	#	2.06	30.0
#	#	2.75	40.6

5.添付書類の目録

(1) 明細書 1通
(2) 委任状及びその訳文 各1通
(3) 優先権証明書及びその訳文 各1通
(4) 優先権証明書及びその訳文 各1通
但し上記(3)及び(4)の書面は造つて補充する。

6.前記以外の発明者、特許出願人または代理人

(1) 発明者
住 所 フランス國オードモース・ブル・ラ・レース・
ブールグアール・ドウ・マルシヤルジョフル84

氏 名 ギイ・ブーラト

住 所

氏 名

住 所

氏 名

(2) 特許出願人

住 所

名 称

(氏名)

代表者

国籍

(3) 代理人

住 所 京都府港区赤坂1丁目9番15号

日本自動車会館

氏 名

3行削除